

微生物修复农药污染的研究进展

欧阳新星¹, 王兆守^{1, 2, 3}

(11 厦门大学化学化工学院化学工程与生物工程系, 福建 厦门 361005;

21 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005;

31 国家海洋局第三研究所海洋生物遗传资源重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要: 微生物降解是农药污染生物修复的重要手段之一。介绍了微生物降解农药的相关机制、7 大类农药微生物降解的研究进展以及微生物降解农药的应用性研究情况。

关键词: 微生物; 生物修复; 农药

中图分类号: X592 文献标识码: A 文章编号: 1006- 060X(2007)06- 0131- 03

随着农药长期的使用, 环境中残留农药量不断增加。这些农药可经食物链传递污染农产品, 对人类健康构成威胁, 影响社会的持续发展。在农药污染的治理方法中, 生物修复技术是目前国际上公认的、最安全的方法, 而微生物修复在生物修复中起着主导作用。

1 微生物降解农药的机制

由于微生物种类繁多, 代谢类型多样, 且易发生变异, 因而即便是很难降解的化合物也有可能找到降解它们的微生物。农药生物降解所涉及的生化反应主要有: 脱卤作用, 脱烃作用, 缩合、氧化作用, 还原作用, 环裂解、酰胺及酯的水解作用等。作用方式可分为两大类: 一类是微生物直接作用于农药, 通过酶促反应降解农药; 另一类是通过微生物的活动改变化学和物理的环境, 间接作用于农药。其中酶促方式的代谢途径包括不以农药为能源的代谢、分解代谢、解毒代谢; 非酶方式的代谢途径则通过改变 pH 发生作用和通过产生辅助因子促进其它反应进行^[1]。

2 典型农药污染的微生物降解

农药的分类方法有很多种, 其中按化学结构可以分为: 有机氯类农药、有机磷农药、有机氮类农药、

有机硫类农药、苯氧羧酸类农药、苯系和二苯醚类农药、拟除虫菊酯类农药、无机及有机金属类农药等。可用于农药降解的微生物有细菌、真菌、放线菌以及部分藻类等。

2.1 有机氯农药的微生物降解

20 世纪 70 年代以前, 杀虫剂中有机氯农药占据非常重要的地位。这类农药在环境中残留期很长、难降解, 并可通过生物链的富集作用, 对鸟类和哺乳动物等构成威胁。其中, DDT 还可在环境中缓慢降解为更加稳定、毒性更大的 DDE。人们对有机氯农药的生物降解研究得较早, 早在 20 世纪 90 年代 Quensen 等^[2] 就发现海洋沉积物中 DDE 能被微生物降解为 DDMU。到目前, 有机氯农药的微生物降解已取得丰富的成果。如张兰英等^[3] 从吉林市农药厂采集的污泥样品中筛选出 JLNY01 和 JLNY02 两株降解阿特拉津(AT) 菌种, 其中 JLNY01 在一定时间内驯化, 降解率可达 83. 6%; JLNY02 可直接在低温条件下进行降解, 降解率达 81. 8%; 高温(30 e) 下, JLNY01 在 6 d 内可达到对 AT 的完全降解, JLNY02 的降解率为 35. 1%。

2.2 拟除虫菊酯类的微生物降解

拟除虫菊酯类农药残留是目前农产品中主要残留类型之一。欧盟对拟除虫菊酯类农药在茶叶中最大残留限量(MRL) 有严格的限制, 如氰戊菊酯、氯氰菊酯、氟氰菊酯、氟氰戊菊酯为 0. 1 mg/kg, 甲氰菊酯为 0. 02 mg/kg, 联苯菊酯为 5 mg/kg^[4]。关于拟除虫菊酯类降解的研究成果有很多, 如丁海涛等^[5] 从活性污泥的富集培养物中分离得到可降解拟除虫菊酯农药的地衣芽孢杆菌菌株 qw5, 并实验证明该菌在通气、pH7~ 8、温度 30 e 左右的环境条件下对氰

收稿日期: 2007- 08- 30

基金项目: 厦门大学引进人才科研启动费项目, 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室开放基金和国家海洋局第三研究所海洋生物遗传资源重点实验室开放研究基金(0000- X071C3, MEL0603, HY200601) 资助、福建省科技厅青年人才项目(2007F3094)

作者简介: 欧阳新星(1987-), 女, 湖南长沙市人, 在读硕士生, 主要研究方向为生物工程。

戊菊酯、氯氰菊酯、溴氰菊酯的降解率分别为 53.8%、41.2% 和 61.7%。梁卫驱等^[6]从农药厂的污泥中进行富集和分离筛选得到克雷伯氏菌属 (*Klebsiella* sp) 的菌株 J-2, 并实验证明菌株 J-2 是一株能高效降解氯氰菊酯的菌株。

2.3 有机磷农药的微生物降解

有机磷农药主要有甲胺磷、乐果、甲基对硫磷、三唑磷、敌百虫、敌敌畏、辛硫磷等。目前对微生物降解甲胺磷的研究已经很充分, Mageong 等^[7]报道大肠杆菌产生的磷酸三酯酶能打开甲胺磷的 P-S 键。阮少江等^[8]研究发现甲胺磷农药经微生物酶-甲胺脱氢酶催化分解为氨基、磷酸根和甲醇等化合物, 并通过小鼠灌胃实验, 发现该农药的毒性明显降低。武晓炜^[9]从长时间、高农药污染的土壤中筛选甲胺磷降解菌, 得到命名为 S-2 的假单胞菌, 该菌利用甲胺磷为营养源, 代谢产生胞外酶酸性磷酸酶, 对初始浓度为 0.1% 的甲胺磷 6 d 可降解 65%。谭芙蓉等^[10]从农药厂污水中分离得到一株能以甲胺磷为唯一碳源、氮源和能源生长的铜绿假单胞菌, 研究得出该菌在甲胺磷中的最佳生长浓度为 0.5 g/L, 最适 pH 为 7.0, 温度为 3 e, 对甲胺磷的耐受浓度为 30 g/L, 并且发现当甲胺磷浓度为 0.5 g/L 时, 培养 5 d 降解率达 79.6%。毛应明^[11]研究发现, 添加有机氮肥能促进有机磷农药降解菌的生长繁殖, 从而促进有机磷农药的降解。

关于甲基对硫磷, 沈标等^[12]研究发现, 土壤中人工接种假单胞菌 (*Pseudomonas* sp) DLL-1 菌株能加速甲基对硫磷的降解。崔中利等^[13]从农药厂污水处理系统中分离到 1 株甲基对硫磷降解菌, 并研究发现在有葡萄糖作为碳源的情况下, 该菌可高效转化甲基对硫磷, 转化效率可达 95% 以上。张瑞福等^[14]从有机磷污染的土壤中分离出 7 株能利用甲基对硫磷为唯一碳源生长的菌株, 并研究发现该菌株对甲基对硫磷的降解速度很快, 无延滞期, 且其水解酶是组成表达的, 无需诱导。

此外, 张瑞福等^[15]通过富集培养从南京周围土壤中分离到一株辛硫磷降解菌 X-1, 该菌能以辛硫磷为唯一碳源生长, 在 25~30 e 长势较好, 最适生长 pH 是 7.0, 且能在 24 h 内使辛硫磷降解 96%。张忠辉等^[16]从长期受杀螟硫磷污染的土壤中分离得到能以杀螟硫磷为唯一碳源生长的细菌 FDS-1, 并通过实验发现该菌能在 14 h 内完全降解 100 mg/L 的杀螟硫磷, 同时测得其降解杀螟硫磷的最适 pH 为 7.0, 最适温度为 30 e。沈齐英等^[17]采用北京大

兴黄村使用过乐果的土壤为菌源, 以乐果作为唯一碳源和能源分离得到对乐果有一定降解能力的细菌, 并通过正交实验发现降解菌在温度为 40 e、pH 为 9.0、NaCl 浓度为 0.5 g/L 条件下生长良好。艾涛^[18]从长年施用乐果的土壤中分离筛选 3 株能在高浓度乐果中生长的真菌。李爱民^[19]研究发现, 莱茵衣藻、纤细裸藻和聚球藻对三唑磷有一定的去除能力。

2.4 有机氮农药的微生物降解

很多研究发现, 微生物降解是苯噻草胺^[20]、丁草胺^[21]等有机氮类农药在土壤环境中的主要降解途径。虞云龙等^[22]研究发现, 根围土壤中丁草胺的降解是非根围土壤的 1.63~2.34 倍。唐美珍等^[23]采用实验室模拟方法, 研究了不同环境条件下碘甲磺隆钠盐在土壤中的降解动态, 发现碘甲磺隆钠盐在土壤中的降解以微生物降解为主, 化学降解为辅, 且降解速率与土壤含水量呈正相关, 与 pH 呈负相关。郭正元等^[24]研究碘甲磺隆钠盐在土壤中的降解, 发现微生物对土壤中碘甲磺隆钠盐的降解影响甚为明显, 且降解速率与土壤温度、湿度及葡萄糖含量呈正相关。冯昕等^[25]从农药污染的农田中分离得到一株假单胞菌 AEBL3, 该菌能够以呋喃丹为唯一的碳源和氮源生长, 得以对呋喃丹进行降解。孙纪全等^[26]从农药厂的活性污泥中分离出能降解异丙隆的鞘氨醇单胞菌属细菌 Y57, 并研究发现接种量为 1% 的 Y57 可以在 48 h 内将 30 mg/L 的异丙隆完全降解, 降解率达 99% 以上; 1 mmol/L 的 Li^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 可以提高 Y57 降解乙丙隆速率, 1 mmol/L 的 Ni^{2+} 、 Zn^{2+} 和 1000 mg/L 的酵母粉、葡萄糖、牛肉膏或蛋白胨对降解有明显的抑制作用。

2.5 芳香类农药的微生物降解

芳香类农药主要包括苯氧羧酸类农药, 苯系和二苯醚类农药。相关品种有 2,4-滴、2 甲 4 氯、2,4-滴丁酸(酯)、五氯硝基苯、五氯苯酚、杀螨剂 F1050(N-(2-甲基-5-氯苯基)-2,4-二硝基-6-三氟甲基苯胺)^[27]等。吴惠明等^[28]用平板稀释和富集培养法分离驯化土壤中 F1050 的优势降解细菌, 并用合成培养基进行纯化培养, 利用美国 Biolog 公司的细菌自动鉴定系统, 初步筛选出 3 个优势降解菌株: ZJU.02 巨大芽孢杆菌、ZJU.04 腊状芽孢杆菌、ZJU.05 球形芽孢杆菌。这三个优势降解菌株对 50 mg/kg F1050 的降解半衰期为 6.41~6.74 d。Chu-Fang Yang 等^[29]从受五氯苯酚污染的土壤中分离出 *Sphingomonas chlorphenolica*, 并研究发现该菌株

很适合于台湾 PCP 污染点的生物修复。

2.6 无机及有机金属类农药的微生物降解

此类农药包括石硫合剂、有机砷类的退菌特、甲基胂酸锌和甲基胂酸铁铵以及有机锡类的三唑锡、福美甲甲等。对环境造成危害的主要部分是其中所含的重金属离子。微生物不能将重金属像有机物矿化那样彻底降解,但可对它们进行固定、移动或转化,改变它们在环境中的迁移特性和形态,以达到修复的目的。据阎晓明等^[30]报道,微生物可以通过带电荷的细胞表面吸附重金属离子,或通过摄取必要的营养元素主动吸收重金属离子,将重金属离子富集在细胞表面或内部。金海玲等^[31]报道枯草芽孢杆菌、地衣型芽孢杆菌、氰基菌以及一些浮游藻类对重金属有吸附作用,从而提出寻找海底降解菌来降低海洋沉积物中重金属浓度是一种可行的方法。此外,Joseph Selvin 等研究发现海绵细胞内外结合的海洋细菌可以作为重金属污染的一种指示剂。

2.7 生物农药的微生物降解

阿维菌素是当前生物农药市场中最受欢迎和具有激烈竞争性的新产品。张卫等实验研究阿维菌素在土壤中的降解,发现灭菌条件下的降解半衰期是未灭菌时的 8 倍,证明了阿维菌素在土壤中的降解与微生物有关^[32]。他们还从长期受阿维菌素污染的土壤中分离得到高效降解阿维菌素的嗜麦芽糖单胞菌(*Stenotrophomonas maltophilia*),发现从该菌株中提取的促酶对阿维菌素有很好的降解效果^[33]。

3 微生物降解农药的应用性研究

在实际应用微生物进行农药降解时,常采用的是施用混合菌株、施用降解菌酶提取物以及构建工程菌三种方法。

采用混合株降解农药可以克服、弥补微生物酶促作用降解农药过程中专一性的制约。张菊^[34]通过实验比较了苯酚降解菌 PD1、PD2 为单一菌株和制成混合菌株时降解苯酚的能力,发现由于共生作用,混合株降解能力高于单独株。

合成和提取微生物酶制剂来降解农药,主要是因为降解酶往往比这类酶的微生物菌体更能忍受异常环境条件,如毒素、天敌和高浓度的农药及其产物都会破坏微生物的降解作用,而降解酶的降解作用不受上述影响^[35]。

随着生物科学技术的发展,特别是基因工程等技术的发展,工程菌的构建发展十分迅速。如中科院武汉病毒研究所的周宁一研究员利用生物技术

成功地构建了降解六氯苯(12种持久性有机污染之一)的工程菌,可以彻底降解六氯苯。

参考文献:

- [1] 林玉锁,龚瑞忠,朱忠林. 农药与生态环境保护[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [2] Quensen J F, Mueller S A, Jain M K, et al. Reductive dechlorination of DDE to DDMU in marine sediment micro cosmos[J]. Science, 1996, 280- 722.
- [3] 张兰英, 林学钰, 李慧芳, 等. 地下水中阿特拉津降解菌种的筛选及其降解试验[J]. 环境化学, 2002, 21(5): 490- 494.
- [4] 王兆守, 林 淦, 尤民生, 等. 茶叶上拟除虫菊酯类农药降解菌的分离及其特性[J]. 生态学报, 2005, 25(7): 1824- 1827.
- [5] 丁海涛, 李顺鹏, 沈 标, 等. 拟除虫菊酯类农药降解菌的筛选及其生理特性研究[J]. 土壤学报, 2003, 40(1): 123- 129.
- [6] 梁卫驱, 刘玉焕, 李 荷. 氯氰菊酯降解菌的分离鉴定及其降解特性研究[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(2): 199- 203.
- [7] Mageong Y C, Joseph F P. Sererpecific enzymetic hydrolysis of phosphorus- sulfur bond in chiral organophosphate trimesters[J]. Bioorganic and Medchemlett, 1994, 4(2): 1473- 1478.
- [8] 阮少江, 刘 洁, 王银善, 等. 微生物酶催化甲胺磷降解机理初探[J]. 武汉大学学报, 2000, 46(4): 471- 474.
- [9] 武晓炜. 甲胺磷农药残留的微生物降解的研究[D]. 天津: 河北工业大学, 2005.
- [10] 谭芙蓉, 李佳楠, 杨志荣. 甲胺磷降解菌的生长特性及其降解活性的研究[J]. 四川大学学报, 2001, 38(5): 728- 731.
- [11] 毛应明. 有机磷农药在土壤中的降解转化过程及影响因子研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2003.
- [12] 沈 标, 邵劲松, 李顺鹏, 等. 假单胞菌 DLL- 1 在土壤生物修复中的作用[J]. 中国环境科学, 2002, (4): 365- 369.
- [13] 崔中利, 李顺鹏, 何 键. 甲基一六〇五降解菌 J5 的分离及其降解性状研究[J]. 农村生态环境, 2001, 17(3): 21- 25.
- [14] 张瑞福, 戴青华, 何 键, 等. 七株有机磷农药降解菌的降解特性比较[J]. 中国环境科学, 2004, 24(5): 584- 587.
- [15] 张瑞福, 朱 卫, 崔中利, 等. 辛硫磷降解菌 X21 的分离鉴定及降解性状的初步研究[J]. 环境科学学报, 2003, 23(3): 411- 413.
- [16] 张忠辉, 洪 青, 张国顺, 等. 杀螟硫磷降解菌 FDS1 的分离鉴定及其降解特性[J]. 中国环境科学, 2005, 25(1): 52- 56.
- [17] 沈齐英, 刘 欢, 张英俊. 有机磷农药乐果降解菌的分离[J]. 农药, 2004, 43(12): 552- 554.
- [18] 艾 涛. 有机磷农药降解菌株的分离鉴定及其性质的初步研究[D]. 儋州: 华南热带农业大学, 2006.
- [19] 李爱民. 藻类对三唑磷的富集与降解研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2006.
- [20] 张承东, 韩胡映, 卢 颖. 不同土壤中苯噻草胺的微生物降解[J]. 农药环境保护, 2001, 20(3): 152- 154.
- [21] 田 芹, 周志强, 江树人, 等. 丁草胺在环境中降解行为的研究进展[J]. 农药, 2004, 43(5): 205- 208.
- [22] 虞云龙, 陈英旭, 潘学冬. 降解菌 HD 接种和非接种根围土壤中丁草胺的降解动力学研究[J]. 土壤学报, 2002, 139(4): 575- 581.

7月17日至8月16日的观察记载结果表明,3种灯对5目15科共21种主要有机蔬菜害虫都有较

好的诱杀效果,同时对益虫也有一定的诱杀作用(见表1)。其中,/巴克星0光电生物灭虫器诱杀害虫种

表1 三种杀虫灯诱杀菜地昆虫种类及数量 (头)

处 理	斜纹夜蛾	小地老虎	棉铃虫	银纹夜蛾	白雪灯蛾	黄守瓜	菜 螟	菜粉蝶	豆 天蛾	芋 天蛾	芋 蛾	猿叶虫	菜 蚜	红腹蜡蛾	豆荚螟	温室粉虱	二十八星瓢虫	甜菜夜蛾	小菜蛾	白背金龟	铜绿色金龟	草 蛉	蜻 蜓	瓢 虫
巴克星(头)	130	8	133	92	4	4	48	47	13	46	33	133	4	51	14	3	4	73	629	16	83	3	10	58
龙皓(CK1)	85	4	104	60	0	4	43	35	0	43	29	120	0	35	11	3	0	40	579	11	54	1	3	46
佳多(CK2)	73	0	94	60	0	4	39	14	0	37	28	116	0	0	11	3	4	31	522	7	52	0	2	38

类多、数量大,对天敌伤害小。表2数据表明,/巴克星0光电生物灭虫器诱杀害虫总数为1469头,是对照/龙皓0杀虫灯诱杀害虫总数1195头的1.23倍,是/佳多0牌杀虫灯诱杀害虫总数1036头的1.42倍,即/巴克星0光电生物灭虫器的杀虫效果比对照/龙皓0牌杀虫灯提高了18.65%,比对照/佳多0牌杀虫灯提高了29.48%。

表2 三种杀虫灯诱杀蔬菜害虫总数

处 理	诱虫总量(头)	日均诱虫量(头)	诱杀害虫总量(头)	诱杀害虫占总数的比例(%)	诱杀益虫数(头)	诱杀益虫占诱杀总数的比例(%)
巴克星(头)	1639	52.87	1469	89.6	71	4.33
龙皓(CK1)	1310	42.26	1195	91.2	50	3.81
佳多(CK2)	1135	36.61	1036	91.3	40	3.52

2.2 对雌虫的诱杀作用

由表3可知,/巴克星0光电生物灭虫器诱杀雌虫的比例比/龙皓0杀虫灯高8.1个百分点,比/佳多牌0频振式杀虫灯高10.5个百分点,但差异不显著。

表3 三种杀虫灯诱杀蔬菜害虫的雌雄性比

处 理	雌虫(头)	雄虫(头)	雌虫所占比例(%)	雄虫所占比例(%)
巴克星	393	263	59.9	40.1
龙皓(CK1)	230	214	51.8	48.2
佳多(CK2)	179	183	49.4	50.6

2.3 灯控区害虫产卵量

试验过程中对/巴克星0光电生物灭虫器诱杀区、/龙皓0诱虫灯诱杀区、/佳多0牌诱虫灯诱杀区和常规防治区害虫产卵量进行了3次调查,平均产卵量分别为百株105粒、128粒、145粒、785粒,灯控区比常规防治区产卵量明显减少。在杀虫灯周围菜田调查,也未见害虫产卵量增加。

2.4 灯控区被害株率

经过调查,常规防治区辣椒被害株率38%~43%,/佳多0防治区辣椒被害株率25%~28.4%,/龙皓0防治区辣椒被害株率21%~25.1%,/巴克星0防治区辣椒被害株率仅11%~15%,/巴克星0防治区被害株率明显小于其它防治区。

3 小 结

蔬菜田应用/巴克星0光电生物灭虫器诱杀害虫的数量明显多于/龙皓0杀虫灯、/佳多0牌频振式杀虫灯,且对天敌伤害小,同时能明显减少田间害虫产卵量和被害株率。/巴克星0光电生物灭虫器还具有性能稳定、使用简便、外形美观等优点,省工、省力,更重要的是不造成环境污染,是有机蔬菜生产中防治害虫的一种好办法。

(上接第133页)

[23] 唐美珍,郭正元,袁 敏,等. 碘甲磺隆钠在土壤中的降解动态研究[J]. 农业环境科学学报,2005,24(4):724-727.

[24] 郭正元,唐美珍,袁 敏,等. 碘甲磺隆钠盐在土壤中的降解[J]. 生态与农村环境学报,2006,22(3):76-79,92.

[25] 冯 昕,刘宪华,宋文华,等. 假单胞菌 AEBL3 对土壤中呋喃丹的生物降解[J]. 城市环境与城市生态,2003,16(6):144-146.

[26] 孙纪全,黄 星,何 健,等. 异丙隆降解菌 Y57 的分离鉴定及其降解特性[J]. 中国环境科学,2006,26(3):315-319.

[27] 吴惠明,朱金文,张 晶,等. 新型杀螨剂 F1050 在不同类型土壤中的降解研究[J]. 土壤学报,2004,41(6):978-982.

[28] 吴惠明,张 晶,朱国念. 新型杀螨剂 F1050 优势降解菌芽孢杆菌的筛选及其鉴定[J]. 农药学报,2004,6(2):43-47.

[29] Chu-Fang Yang, Chi-Mei Lee, Chun-Chin Wang. Isolation and

physiological characterization of the pentachlorophenol degrading bacterium *Sphingomonas chlorophenolica* [J]. *Chemosphere*, 2006, 62(5):709-714.

[30] 阎晓明,何金柱. 重金属污染土壤的微生物修复机理及研究进展[J]. 化工进展,2002,30(6):877-879,883.

[31] 金海玲,胡恭任. 海洋沉积物中重金属污染防治研究进展[J]. 地球与环境,2004,32(3-4):7-13.

[32] 张 卫,虞云龙,吴加伦,等. 阿维菌素在土壤中的降解和高效降解菌的筛选[J]. 土壤学报,2004,41(4):590-596.

[33] 张 卫,虞云龙,吴加伦,等. 农药阿维菌素酶促降解的初步研究[J]. 中国环境科学,2004,24(1):14-18.

[34] 张 菊. 苯酚降解菌的分离筛选及其降解特性研究[D]. 成都:西南交通大学,2004.

[35] 刘淑娟,肖 军. 农药残留的微生物降解技术[J]. 泰山学院学报,2004,26(6):97-100.